

HUBUNGAN SENSISTIVITAS *PLASMODIUM FALCIPARUM* TERHADAP KOMBINASI PIRIMETAMIN/SULFADOKSIN DAN KLOOROKUIN SECARA *IN VITRO**

Sahat Ompusunggu¹, R.P. Arbani², Harijani A. Marwoto¹,
Sekar Tuti E.¹ dan Marvel Renny¹

ABSTRACT

An *in vitro* sensitivity test was conducted to study the sensitivity of *Plasmodium falciparum* against chloroquine and pyrimethamine/sulphadoxine combination. The relationship between sensitivity of the parasite to the two drugs was also studied.

A total of 72 patients from five localities were examined during 1984-1985. Test against chloroquine was conducted according to WHO method, while against pyrimethamine/sulphadoxine combination, a modified method of Nguyen Dinh and Payne and Eastham and Rieckmann was used.

The results showed that there is no relationship between the sensitivity of *P. falciparum* against pyrimethamine/sulphadoxine combination and chloroquine. It can be concluded that in case of chloroquine resistant *P. falciparum*, pyrimethamine/sulphadoxine combination could be applied as an alternative chemotherapy.

PENDAHULUAN

Plasmodium falciparum yang resisten terhadap klorokuin telah ditemukan di 22 propinsi di Indonesia¹, sehingga dalam penanggulangannya digunakan obat-obatan alternatif. Salah satu di antaranya adalah Fansidar^R (kombinasi pirimetamin/sulfadoksin). Obat ini memiliki keunggulan, antara lain karena aman, efektif dan cukup diberikan dengan dosis tunggal. Akan tetapi, resistensi terhadap Fansidar telah dilaporkan terjadi di beberapa negara², demikian juga di Indonesia. Resistensi *P. falciparum* terhadap obat ini telah dilaporkan dari Irian Jaya³ dan Timor Timur⁴.

Untuk mengetahui seberapa besar masalah resistensi *P. falciparum* terhadap Fansidar di Indonesia, secara *in vitro* telah dilakukan tes terhadap kombinasi pirime-

tamin/sulfadoksin (P/S) di beberapa tempat. Tes ini dilakukan bersamaan dengan dengan tes secara *in vitro* terhadap klorokuin.

Menurut Bruce-Chwatt² *P. falciparum* yang resisten terhadap klorokuin sering juga resisten terhadap pirimetamin. Mengingat bahwa pirimetamin merupakan salah satu komponen dari P/S, maka ada kemungkinan *P. falciparum* yang resisten terhadap klorokuin ini cenderung resisten juga terhadap P/S. Tulisan ini membicarakan kemungkinan adanya hubungan antara sensitifitas *P. falciparum* terhadap P/S dan terhadap klorokuin secara *in vitro*. Keterangan yang diperoleh berguna dalam program pemberantasan malaria, yaitu untuk menentukan apakah P/S dapat dipakai sebagai obat alternatif terhadap *P. falciparum* yang resisten terhadap klorokuin.

*Makalah ini telah dibacakan pada Seminar Parasitologi Nasional Ke-IV dan Kongres P4I Ke-III, Yogyakarta, 12-14 Desember 1985.

¹Pusat Penelitian Penyakit Menular, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Jakarta.

²Subdit Malaria, Ditjen Pemberantasan Penyakit Menular dan Penyehatan Lingkungan Pemukiman, Jakarta.

BAHAN DAN CARA KERJA

Sampel: Penderita malaria (yang memenuhi syarat untuk dites), diperoleh dengan cara survei pemeriksaan darah. Darah diambil dari ujung jari, dibuat sediaan darah tebal, dicat dengan Giemsa (15% selama 5 – 10 menit) dan diperiksa di bawah mikroskop pada saat itu juga. Syarat penderita yang terpilih untuk dites adalah: a. umur paling sedikit dua tahun; b. hanya mengandung parasit *P. falciparum* saja dan bukan infeksi campuran; c. kepadatan parasit aseksual antara 500 – 100.000/mm³ darah; d. tidak minum obat malaria (4–aminokuinolin, sulfa dan sulfadoksin) sebelum penelitian dilakukan dan ini diketahui dengan cara tes air seni dengan reagen Dill Glazko (untuk 4–aminokuinolin) dan reagen Lignin (untuk preparat sulfa). Sebanyak 0,1 ml darah penderita yang memenuhi syarat diambil dengan tabung kapiler mengandung heparin untuk dijadikan sebagai sampel.

Media: Media yang dipakai untuk tes terhadap klorokuin sesuai dengan media yang dipakai dengan cara standar WHO⁵. Media untuk tes terhadap P/S adalah: RPMI 1640 10,4 g, PABA (para-amino benzoic acid) 25 ug, asam folat 10 ug, HEPES buffer 6 g, NaHCO₃ 5% 42 ml dan gentamisin 4 mg per 1 liter akuabides. NaHCO₃ 5% dicampurkan sesaat sebelum media dipakai.

Cara tes: Tes terhadap klorokuin sesuai dengan cara standar WHO⁵, sedangkan tes terhadap P/S dilakukan dengan cara modifikasi Nguyen Dinh and Payne dan Eastham and Rieckmann⁶. Kepekatan pirimetamin yang dipakai adalah: 0,0 (kontrol); 0,001; 0,003; 0,01; 0,03; 0,1; 0,3 dan 1,0 umol/liter media. Masing-masing kepekatan obat tersebut dimasuk-

kan ke dalam sumur "microplate" berdasar rata dengan garis tengah 6,5 mm, berturut-turut pada sumur A, B, C, D, E, F, G, dan H. Larutan sulfadoksin kemudian ditambahkan ke masing-masing sumur dengan perbandingan 1 : 320.

Sampel yang berupa 0,1 ml darah penderita yang memenuhi syarat dicampurkan ke dalam 0,9 ml media lengkap. Kemudian 0,05 ml campuran darah dan media ini diteteskan ke dalam setiap sumur yang mengandung bahan obat. "Microplate" selanjutnya dimasukkan ke dalam "candle jar" dalam suasana anaerob, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 jam. Endapan eritrosit diambil dari setiap sumur, dibuat sediaan darah tebal, dikeringkan dalam suhu kamar selama dua hari lalu dicat dengan Giemsa (5% selama 20 menit) dan diperiksa di bawah mikroskop untuk menghitung sizon normal. Pemiakan dianggap berhasil bila dalam sumur kontrol terdapat jumlah sizon normal minimum 20/200 parasit aseksual.

Penentuan sensitivitas terhadap klorokuin sesuai dengan kriteria yang ditetapkan WHO⁵. Terhadap P/S, Eastham and Rieckmann⁶ mengatakan bahwa strain *P. falciparum* yang sensitif terhadap pirimetamin, pertumbuhannya akan terhambat pada kepekatan pirimetamin 0,08 umol atau lebih/liter media dan kepekatan sulfadoksin 100 umol atau lebih/liter media. Dalam tes ini dipakai batas kepekatan pirimetamin 0,03 umol atau lebih/liter media dan kepekatan sulfadoksin 96 umol atau lebih/liter media, yang terletak pada sumur G dan H.

Tes sensitivitas ini dilakukan di 5 tempat: Jepara (Jawa Tengah) Mamuju (Sulawesi Selatan), Sabang (Aceh), Kepulauan Riau/Pulau Singkep dan Pulau Kundur (Riau) dan Nias (Sumatera Uta-

ra) dalam tahun 1984–1985. Setiap sampel diusahakan dites secara serentak terhadap P/S dan klorokuin. Jumlah seluruh sampel yang berhasil dites ada 72 sampel dan banyak sampel di tiap tempat bervariasi antara 2–25 sampel.

korelasi linier antara sensitivitas terhadap P/S dengan sensitivitas terhadap klorokuin ($r = 0,56$; $P > 0,05$).

Sampel yang berhasil dites secara berpasangan (serentak) di seluruh tempat penelitian berjumlah 61 sampel dan hasilnya dapat dilihat pada Tabel 2. Dengan

Tabel 1. Sensitivitas *P. falciparum* secara *in vitro* terhadap kombinasi pirimetamin/sulfadoksin dan klorokuin di lima tempat di Indonesia, 1984–1985.

Tempat	Jumlah yang resisten/yang dites (%)	
	P/S	Klorokuin
Jepara (Jawa Tengah)	9/15 (60)	1/11 (9)
Mamuju (Sulawesi selatan)	9/19 (47)	12/21 (57)
Sabang (Aceh)	10/21 (48)	14/25 (56)
Kepulauan Riau* (Riau)	8/15 (53)	2/8 (25)
Nias (Sumatera Utara)	2/2 (100)	6/7 (86)

P/S = kombinasi pirimetamin/sulfadoksin; *Pulau Singkep dan Pulau Kundur.

HASIL

Hasil tes di tiap tempat penelitian dapat dilihat pada Tabel 1. Dengan analisa korelasi dan regresi ternyata tidak ada

analisa X^2 ternyata juga tidak ada hubungan antara sensitivitas terhadap P/S dengan sensitivitas terhadap klorokuin ($P > 0,05$).

Tabel 2. *P. falciparum* yang resisten terhadap kombinasi pirimetamin/sulfadoksin dan klorokuin di lima tempat di Indonesia, 1984–1985.

Klorokuin	P/S		Jumlah
	Resisten	Sensitif	
Resisten	34	18	52
Sensitif	4	5	9
Jumlah	38	23	61

PS P/S = kombinasi pirimetamin/sulfadoksin.

PEMBAHASAN

Hasil tes menunjukkan bahwa tidak ada hubungan antara sensitivitas *P. falciparum* terhadap P/S dan terhadap klorokuin, baik ditinjau dari analisa hasil tes menurut tempat maupun analisa pada sampel-sampel yang berhasil dites berpasangan (serentak). Hal ini dapat disebabkan karena perbedaan mekanisme kerja dan mekanisme resistensi pada kedua macam obat itu. Pirimetamin dan sulfadoksin bersifat parasitostatik dan daya kerjanya lambat. Pirimetamin bekerja sebagai inhibitor enzim dihidrofolat reduktase (enzim ini berfungsi dalam perubahan asam dihidrofolat menjadi tetrahidrofolat) sehingga parasit menjadi tidak mampu membentuk asam tetrahidrofolat, selanjutnya tidak mampu melanjutkan sizogoni dan akhirnya difagositosa. *Plasmodium falciparum* menjadi resisten terhadap pirimetamin karena parasit itu mampu membentuk enzim reduktase yang abnormal⁷ atau membentuk enzim dihidrofolat reduktase dalam jumlah yang sangat banyak⁸. Sulfadoksin bekerja sebagai kompetitor PABA, yaitu berkompetisi dengan PABA dalam memperebutkan enzim dihidropteroat sintetase, sehingga pembentukan asam dihidropteroat dari dihidroperidin menjadi terganggu⁷. Resistensi terhadap sulfadoksin terjadi karena parasit mampu menggunakan suatu "jalan pintas" dalam memperoleh prekursor folat dengan cara melintasi pemakaian PABA atau PABA menjadi tidak diperlukan parasit⁸. Contoh prekursor folat yang dapat digunakan parasit yang resisten ini adalah folat eritrosit, yaitu poliglutamat 5-metiltetrahidrofolat⁹. Adapun mekanisme kerja dan mekanisme resistensi terhadap klorokuin adalah berbeda. Klorokuin bersifat parasitisida, daya kerjanya cepat⁷ dan bekerja dengan

cara menyusup pada serat ganda (double stranded) heliks DNA (deocytiribonucleic acid) sehingga tidak terjadi pembentukan asam nukleat^{8, 10}. *Plasmodium falciparum* menjadi resisten terhadap klorokuin karena parasit itu mampu mengubah reseptor pada membran tubuhnya sendiri sehingga afinitasnya terhadap klorokuin menjadi berkurang. Juga menghasilkan asam laktat yang lebih sedikit sehingga dalam kondisi basa tersebut eritrosit yang ditumpanginya menjadi tidak mampu mengikat haemin dan selanjutnya tidak terjadi pembentukan "pintu gerbang" tempat masuknya klorokuin ke dalam eritrosit untuk membunuh parasit¹¹.

Di samping alasan tersebut, ada juga kemungkinan bahwa hal itu disebabkan oleh pengaruh sinergistik sulfadoksin terhadap daya kerja pirimetamin. Pirimetamin dan sulfadoksin bekerja saling memperkuat (sinergistik)¹² sehingga *P. falciparum* yang resisten terhadap pirimetamin bisa menjadi sensitif terhadap P/S. Dengan demikian, jumlah yang resisten terhadap P/S lebih kecil daripada yang resisten terhadap pirimetamin. Jadi pernyataan Bruce-Chwatt yang mengatakan bahwa *P. falciparum* yang resisten terhadap klorokuin sering resisten juga terhadap pirimetamin, tidak berarti sering resisten juga terhadap P/S.

Sebagai kesimpulan dapat dikatakan bahwa sensitivitas *P. falciparum* secara *in vitro* terhadap kombinasi pirimetamin/sulfadoksin tidak ada hubungan dengan sensitivitas terhadap klorokuin. Dengan perkataan lain, bila suatu strain *P. falciparum* resisten terhadap klorokuin, maka strain tersebut tidak selalu resisten pula terhadap kombinasi pirimetamin/sulfadoksin dan sebaliknya. Dengan demikian, kombinasi pirimetamin/sulfadoksin dapat digunakan sebagai obat al-

ternatif terhadap *P. falciparum* yang resisten terhadap klorokuin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Bapak Dr. Iskak Koiman, Kepala Pusat Penelitian Penyakit Menular Badan Litbang Kesehatan atas kesempatan yang diberikan sehingga penelitian dapat terlaksana. Juga kepada seluruh staf Subdit Malaria Ditjen PPM & PLP dan Kanwil Kesehatan di seluruh daerah penelitian, diucapkan terima kasih atas segala bantuannya.

KEPUSTAKAAN

1. Rai, N. Kumara (1985). Masalah *P. falciparum* yang resisten klorokuin di Indonesia. Dalam *Kumpulan Naskah Lengkap Simposium dan Diskusi Panel Malaria*, 9 Mei 1985, Semarang: 101 – 110.
2. Bruce-Chwatt, L.J. (Ed) (1981). *Chemotherapy of Malaria*. Second Ed. WHO Monograph Seri No. 27, WHO, Geneva: 80, 112.
3. Rumans L.W., Dennis D.T. and Atmosoedjono S. (1979). Fansidar Resistant *falciparum* malaria in Indonesia. *Lancet* 15 : 580.
4. Adjung dkk. (1982). *Plasmodium falciparum* dari Timor Timur yang *in vivo* resisten terhadap klorokuin dan Fansidar. Pertemuan Teknis mengenai *Plasmodium falciparum* yang resisten terhadap klorokuin di Indonesia, Ditjen P3M, Depkes R.I., 12 April 1982, Jakarta.
5. Ditjen PPM & PLP, Depkes R.I. (1983). *Malaria: Tes resistensi in vivo dan in vitro untuk P. falciparum*. Ditjen PPM & PLP, Depkes R.I., Jakarta.
6. Harijani A.M. dkk (1985). Penelitian Resistensi *P. falciparum* terhadap Fansidar di Indonesia. *Seminar Parasitologi Nasional Ke-IV dan Kongres P4I Ke-III*, 12-14 Desember 1985, Yogyakarta.
7. Clyde, D.F. (1983a). Mechanism of drug resistance in malaria. *Third meeting of principal investigators of the regional collaborative studies on drug resistant malaria*, 2–6 May 1983, Jakarta.
8. Brockelman G.R. et al. (1985). Drug resistance in *Plasmodium falciparum*. In *Problem of malaria in the SEAMIC countries*, ed. by C. Harinasuta and D.G. Reynolds. *Proc. 12th SEAMIC Workshop*, 20–24 August 1985, Bangkok.
9. World Health Organization (1985). *Tropical Diseases Research. Seventh Prog. Rep.*, 1 January 1983 – 31 December 1984. WHO, Geneva.
10. Warchust D.C. (1980). Mode of action of drug resistance in malaria. WHO Unpublished document, WHO/MAL/80.919.
11. Clyde D.F. (1983b). Theoretical constraint to cross resistance between chloroquine and mefloquine. *Third meeting of principal investigators of the regional collaborative studies on drug resistant malaria*, 2–6 May 1983, Jakarta.
12. Roche (1981). Basic documentation of Fansidar tablets. C.F. Hoffmann La Roche & Co. Basle.